

INSTITUUT VOOR PLANTENZIEKTENKUNDIG ONDERZOEK
WAGENINGEN, NEDERLAND
DIRECTEUR: Dr. J. G. TEN HOUTEN

MEDEDELING No. 264

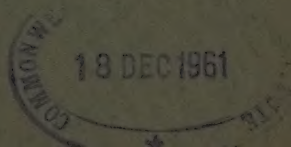
DE INVLOED VAN GLADIOLUS OP DE KIEMING VAN
SCLEROTIËN VAN SCLEROTIUM CEPIVORUM
(THE INFLUENCE OF GLADIOLUS ON THE GERMINATION
OF SCLEROTIA OF SCLEROTIUM CEPIVORUM)

DOOR

G. M. TICHELAAR



OVERDRUK UIT:
T. PL.-ZIEKTEN, 67: 290-295, 1961



INSTITUUT VOOR PLANTENZIEKTENKUNDIG ONDERZOEK (I.P.O.)

Office and main laboratory:

Binnenhaven 12, tel. 2151, 2152 en 3641
Wageningen, The Netherlands.

Staff:

Director:

Dr. J. G. TEN HOUTEN

Deputy director and head of the Entomological Dept.:

Dr. H. J. DE FLUITER, Wageningen.

Head of the Mycological Dept.:

Ir. J. H. VAN EMDEN, Wageningen.

Head of the Nematological Dept.:

Dr. Ir. J. W. SEINHORST, Wageningen.

Head of the Plant Disease Resistance Dept.:

Dr. J. C. s'JACOB, Wageningen.

Head of the Virological Dept.:

Miss Drs. F. QUAK, Wageningen.

Head of the Section Agricultural Aviation:

Miss M. C. KERSEN, Wageningen.

Head of the Section Biochemical Research

Dr. J. H. VENEKAMP, Wageningen.

and Application of Radioactive Isotopes:

Ir. F. H. F. G. SPIERINGS, Wageningen.

Head of the Section Air Pollution Problems:

Research workers at the Wageningen Laboratory:

Dr. Ir. A. B. R. BEEMSTER, Virologist

D. Z. MAAT, Virologist

Ir. J. H. VAN EMDEN, Phytopathologist

F. A. VAN DER MEER, Entomologist

Ir. J. A. DE BOKX, Virologist

Dr. J. C. MOOI, Phytopathologist

Dr. Ir. L. BOS, Virologist

J. P. W. NOORDINK, Radiochemist

Dr. H. H. EVENHUIS, Entomologist

W. C. NIJVELDT, Entomologist

Dr. H. J. DE FLUITER, Entomologist

Ir. H. DEN OUDEN, Nematologist

Dr. C. J. H. FRANSSSEN, Entomologist

Miss Drs. H. J. PFAELTZER, Virologist

Dr. J. GROSJEAN, Phytopathologist

Ir. A. VAN RAAY, Plantphysiologist

Ir. N. HUBBELING, Phytopathologist and
plantbreeder

Miss Drs. F. QUAK, Virologist

Dr. J. C. s'JACOB, Phytopathologist and
plantbreeder

Drs. L. E. VAN 'T SANT, Entomologist

Miss M. C. KERSEN, Agricultural aviation
expert

Dr. Ir. J. W. SEINHORST, Nematologist

Miss Dr. C. H. KLINKENBERG, Nematologist

Dr. H. H. SOL, Virologist

Ir. R. E. LABRUYERE, Phytopathologist

Ir. J. VAN DER SPEK, Phytopathologist

Drs. H. P. MAAS GEESTERANUS, Phytopathologist

Ir. F. H. F. G. SPIERINGS, Plantphysiologist

G. M. TICHELAAR, Phytopathologist

Dr. F. TJALLINGH, Phytopathologist

Ir. E. UBELS, Phytopathologist

Dr. J. H. VENEKAMP, Biochemist

Research workers elsewhere

Drs. J. M. M. v. BAKEL, Phytopathologist } detached to „Proefstation voor de Groenteteelt
Ir. C. KAAI, Nematologist } in de volle grond", Alkmaar, tel. 02200-6541.

Drs. D. J. DE JONG, Entomologist } detached to „Proefstation voor de Fruitteelt in de volle
Ir. G. S. ROOSJE, Phytopathologist } grond", Wilhelminadorp, Goes, tel. 01100-2261.

M. VAN DE VRIE, Entomologist

Ir. T. W. LEFERING, Phytopathologist/Virologist, detached to „Proeftuin Noord Limburg"
Venlo, tel. 04700-2503.

Ir. F. A. HAKKAART, Virologist

} detached to „Proefstation voor de bloemisterij

Drs. G. SCHOLTEN, Phytopathologist

} in Nederland", Aalsmeer, tel. 02977-688.

Dr. K. VERHOEFF, Phytopathologist, detached to „Proeftuin voor de Groente en- Fruitteelt
onder glas", Naaldwijk, tel. 01740-4545.

Guest workers:

Dr. P. A. VAN DER LAAN, Entomologist, „Laboratorium voor toegepaste Entomologie der
Gemeente Universiteit", Amsterdam, tel. 020-56282.

Dr. Ir. G. S. VAN MARLE, Entomologist, Diepenveenseweg 226, Deventer, tel. 06700-3617.

Ir. G. W. ANKERSMIT, Entomologist, „Laboratorium voor Entomologie", Agricultural Uni-
versity, Wageningen, tel. 08370-2438.

Dr. Ir. J. B. M. VAN DINSTER, Entomologist, „Laboratorium voor Entomologie", Agricul-
tural University, Wageningen, tel. 08370-2438.

Aphidological Adviser:

Mr. D. HILLE RIS LAMBERS, Entomologist, T.N.O., Bennekom, tel. 08379-2458.

DE INVLOED VAN *GLADIOLUS* OP DE KIEMING VAN SCLEROTIËN VAN *SCLEROTIUM CEPIVORUM*

De invloed van *Gladiolus* op de kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* is onderzocht. Het blijkt dat de kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* door de aanwezigheid van *Gladiolus* wordt bevordert. De kieming is het best bij een concentratie van 1:1000.

De kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* is het best bij een concentratie van 1:1000. De kieming is het best bij een concentratie van 1:1000.

De kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* is het best bij een concentratie van 1:1000. De kieming is het best bij een concentratie van 1:1000.

De kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* is het best bij een concentratie van 1:1000. De kieming is het best bij een concentratie van 1:1000.

De kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* is het best bij een concentratie van 1:1000. De kieming is het best bij een concentratie van 1:1000.

De kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* is het best bij een concentratie van 1:1000. De kieming is het best bij een concentratie van 1:1000.

De kieming van sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* is het best bij een concentratie van 1:1000. De kieming is het best bij een concentratie van 1:1000.

DE INVLOED VAN *GLADIOLUS* OP DE KIEMING VAN SCLEROTIËN VAN *SCLEROTIUM CEPIVORUM*¹

With a summary: The influence of Gladiolus on the germination of sclerotia of Sclerotium cepivorum

DOOR

G. M. TICHELAAR

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

De schimmel *Sclerotium cepivorum* Berk. is de veroorzaker van witrot bij *Allium*-soorten. Het is een bodemparasiet, die de plant via de ondergrondse delen binnendringt. De schimmel blijft in de grond over in de vorm van sclerotieën, die zeer lang (8 tot 10 jaar) levensvatbaar kunnen blijven. Deze sclerotieën kiemen onder gunstige omstandigheden en vormen dan een vertakt, hyalien mycelium, dat zich snel kan ontwikkelen.

Sommige onderzoekers (COTTON & OWEN, 1920; COLEY-SMITH, 1958), evenals schrijver dezes, namen de vorming van microconidiën waar (fig. 1). Zij konden deze microconidiën echter niet tot kieming brengen. Bij de verspreiding en instandhouding van de schimmel spelen deze microconidiën dan ook vermoedelijk geen rol.

Het is bekend dat bepaalde planten in hun wortels chemische stoffen bevatten die, wanneer gediffundeerd of afgescheiden in het omringende milieu, de activiteit van bepaalde bodemorganismen stimuleren of onderdrukken. Deze stoffen scheppen gunstige of ongunstige voorwaarden in de grond voor de groei van pathogene organismen, evenals voor de ontwikkeling van andere vertegenwoordigers van de microflora, waarbij de werking van de bedoelde stoffen selectief kan zijn (TIMONIN, 1941).

COLEY-SMITH (1958) toonde aan dat er van uieplanten een stimulerende invloed uitgaat op de kieming van sclerotieën van *S. cepivorum*. Indien in de directe omgeving van een gekiemd sclerotium geen waardplant aanwezig is, sterven de hyfen binnen een paar dagen af en vergaan de sclerotieën spoedig geheel. Eigen proeven met wortelexcreten van uieplanten bevestigden deze kiemstimulerende werking.

Tot dusverre is een effectieve bestrijding van witrot met chemische middelen niet mogelijk gebleken, met uitzondering van het middel calomel, dat echter te duur is voor toepassing in de praktijk. Een andere wijze van bestrijding is toepassing van vruchtwisseling, maar hiermee zijn vele jaren gemoeid vanwege de grote persistentie van de sclerotieën in de grond.

De gedachte kwam op, te zoeken naar een plant, die dezelfde kiemstimulerende werking heeft op de sclerotieën als de ui, maar die zelf niet als gastheer fungeert. In zo'n geval zouden de sclerotieën ontkiemen en uit de bodem verdwijnen.

¹ Aangenomen voor publikatie 23 juni 1961.

LABORATORIUMPROEVEN

Gladioleknollen werden gedurende enkele dagen met de wortels in water gezet. Van de aldus verkregen waterige wortellexcreten werden verdunningsreeksen gemaakt, waarbij de uitgangskonzentratie op 100 werd gesteld. In deze verdunde oplossingen werden sclerotiën, verkregen uit reïncultuur, te kiemen gelegd op voorwerpglaasjes. Om te kunnen nagaan of ook de leeftijd van de sclerotiën een rol speelt bij het kiemproces, werden sclerotiën van verschillende ouderdom gebruikt. Per object werden 10 sclerotiën uitgelegd, die tevoren gedurende vijf minuten ontsmet waren in een verzadigde calciumhypochloriet-oplossing. Voor de controles werd leidingwater gebruikt. De resultaten zijn vermeld in tabel 1.

TABEL 1. Invloed van wortellexcreten van *Gladiolus* op de kieming van sclerotiën op voorwerpglaasjes.
Influence of root exudates of *Gladiolus* on the germination of sclerotia on slides.

Ouderdom sclerotiën <i>Age of sclerotia</i>	Verdunning wortellexcreet <i>Dilution of root exudate</i>	Percentage gekiemde sclerotiën na . . . dagen <i>Percentage of germinated sclerotia after . . . days</i>								
		2	2	3	5	6	7	8	9	14
11 weken/ <i>weeks</i>	1	40	40			40				
	0,1	80	80			80				
	0,01	70	70			70				
	0,001	90	90			90				
	leidingwater	20	50			70				
	tapwater									
7 weken/ <i>weeks</i>	1			0	0		20	30	30	30
	0,1			0	0		0	10	10	20
	0,01			0	30		80	80	80	80
	0,001			0	40		60	60	60	60
	leidingwater			10	30		50	60	70	80
	tapwater									
1 week/ <i>week</i>	1			0	0		0	0	0	0
	0,1			0	0		0	0	0	10
	0,01			0	0		0	0	0	20
	0,001			0	0		0	0	0	0
	leidingwater			0	0		0	0	0	0
	tapwater									

Zeer waarschijnlijk speelt de concentratie van de werkzame stof een rol bij het kiemproces, waarbij een zeer geringe concentratie kiemstimulerend werkt doch een hogere concentratie niet. Daarnaast blijkt de leeftijd van de sclerotiën van invloed te zijn op de snelheid van het kiemen in die zin, dat oude sclerotiën sneller kiemen dan jonge. Dit laatste is in overeenstemming met de bevindingen van COLEY-SMITH (1958).

Deze proef werd op een andere wijze herhaald, waarbij 1 ml van de verdunningsreeks vermengd werd met 9 ml wateragar. Voor deze voedingsbodems werd wateragar gebruikt omdat dit weinig of geen voedingsstoffen bevat die eventueel invloed zouden kunnen uitoefenen op de kieming. Per object werden

100 ontsmette sclerotiën van 14 weken oud te kiemen gelegd. In tabel 2 zijn de uitkomsten vermeld.

TABEL 2. Invloed van wortel-excreten van *Gladiolus* op de kieming van sclerotiën op agar.
Influence of root exudates of Gladiolus on the germination of sclerotia on agar.

Verdunning wortel-excreet <i>Dilution of root exudate</i>	Percentage gekiemde sclerotiën na . . . dagen <i>Percentage of germinated sclerotia after . . . days</i>			
	2	3	4	6
1	24	45	52	59
0,1	9	34	39	51
0,01	7	32	37	43
0,001	3	24	31	39
leidingwater <i>tapwater</i>	7	24	32	35

Ook uit tabel 2 blijkt duidelijk dat de kieming van de sclerotiën van *Sclerotium cepivorum* door wortel-excreten van *Gladiolus* wordt gestimuleerd. Deze proeven zijn verscheidene keren herhaald met gelijklopende resultaten.

In een andere proef werden gladioleknollen in een „waringblendor” fijn gemaakt. Het verkregen extract werd in een verdunningsreeks met aardappel-glucose-agar in petrischalen vermengd. Sclerotiën, die op deze voedingsbodems werden uitgelegd, vertoonden ook een versnelde kieming ten opzichte van de controles. Deze kieming verliep echter minder snel dan in de proeven waarbij gebruik gemaakt werd van wortel-excreten. Opvallend in deze proef was het beeld van de myceliumgroei. Naarmate het extract geconcentreerder was, was het mycelium korter, sterker vertakt en gedrongener van vorm, waarbij verdere groei spoedig ophield (fig. 2, 3 en 4).

Om na te gaan of *Gladiolus* als waardplant voor *S. cepivorum* kan optreden, werden stukjes gladioleknol op een voedingsbodem van aardappel-glucose-agar uitgelegd en op enige afstand daarvan mycelium van *S. cepivorum* geënt. Reeds na twee dagen was een duidelijke remmingszone aanwezig, veroorzaakt door diffusie van één of meer onbekende stoffen in de agar (fig. 5).

Misschien is deze stof dezelfde als die welke in zeer geringe concentraties de stimulerende werking vertoont op de kieming van sclerotiën. Hiermee is het duidelijk dat *Gladiolus* niet als waardplant voor *S. cepivorum* kan optreden.

POTPROEVEN

Om de invloed van *Gladiolus* op sclerotiën in de grond te onderzoeken, werd een aantal potproeven genomen. In potten, gevuld met gestoomde tuingrond, werden 20 sclerotiën per pot gedaan en vervolgens per pot één gladioleknol geplant. Na verloop van tijd werd de grond uit de potten opgespoeld in een aaltjesspoelapparaat van SEINHORST (1956) en onderzocht op nog aanwezige sclerotiën. De proef werd uitgevoerd met zeven potten, waarin sclerotiën en gladioleknollen en drie potten als controle, waarin uitsluitend sclerotiën aanwezig waren. In tabel 3 zijn de resultaten weergegeven.

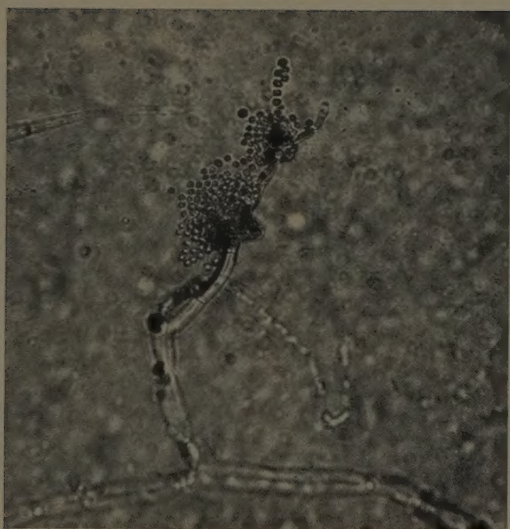


FIG. 1. Micronidiën van *S. cepivorum*. *Microconidia of S. cepivorum*.

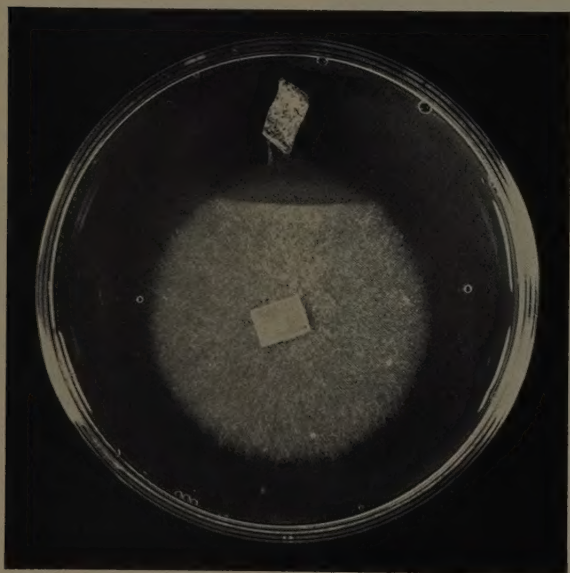
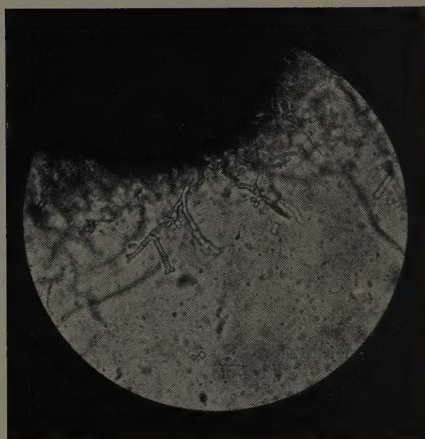


FIG. 5. Remmingszone, veroorzaakt door *Gladiolus* op mycelium van *S. cepivorum*.
Inhibition zone caused by Gladiolus on mycelium of S. cepivorum.



2



3



4

FIG. 2. Normaal kiemend sclerotium op voedingsbodem zonder extract.
Germinating sclerotium on nutrition agar without extract.

FIG. 3. Kiemend sclerotium op voedingsbodem met extract (verdunning 0,1).
Germinating sclerotium on nutrition agar with extract (dilution 0,1).

FIG. 4. Kiemend sclerotium op voedingsbodem met extract (verdunning 1).
Germinating sclerotium on nutrition agar with extract (dilution 1).

TABEL 3. Invloed van de teelt van *Gladiolus* op sclerotiën in de grond. Per pot 20 sclerotiën.
Influence of the cultivation of Gladiolus on sclerotia in the soil. 20 sclerotia per pot.

Pot	Aantal teruggevonden sclerotiën na . . . weken <i>Number of recovered sclerotia after . . . weeks</i>						
	4	8	10	12	14	15	19
1	5						
2			4				
3				4			
4					2		
5						4	
6			0				
7							8
controles <i>controls</i>		15	13	14			

Uit tabel 3 blijkt, dat in de potten met gladioleknollen belangrijk minder sclerotiën werden teruggevonden dan in de potten zonder gladioleknollen. Daar het mogelijk kan zijn dat organische stoffen in de grond een rol spelen bij de kieming en het verdwijnen van de sclerotiën uit de grond, werd bovenstaande proef herhaald met zuiver, gestoomd zand. Per pot werden 10 sclerotiën toegevoegd. De proef bestond uit negen potten met en drie potten zonder gladiolen. De aantallen teruggevonden sclerotiën zijn vermeld in tabel 4.

Ook nu bleek, dat in de potten met een gladioleknol belangrijk minder sclerotiën konden worden teruggevonden dan in de potten zonder gladioleknol.

Deze proef werd nogmaals herhaald met gestoomd zand en 50 sclerotiën per pot. Ook hier varieerden de aantallen teruggevonden sclerotiën in de potten met gladiolen van nul tot 30 % van het oorspronkelijke aantal toegevoegde sclerotiën, terwijl in de controles gemiddeld 95 % van de sclerotiën werden teruggevonden. Een deel van de teruggevonden sclerotiën uit de potten met gladiolen vertoonde een aantastingsbeeld, waarbij de schorswand een gecorro-

TABEL 4. Invloed van de teelt van *Gladiolus* op sclerotiën in gestoomd zand. Per pot 10 sclerotiën.
Influence of the cultivation of Gladiolus on sclerotia in steamed sand. 10 sclerotia per pot.

Pot	Aantal teruggevonden sclerotiën na ... weken <i>Number of recovered sclerotia after ... weeks</i>						
	15	16	19	21	23	24	
1	0						
2		2					
3			2				
4				1			
5					2		
6						1	
7		1					
8			2				
9				2			
controles <i>controls</i>			9	10	9		

deerd uiterlijk had; andere waren nog volkomen gaaf. In bovenstaande proeven zijn in totaal 6 variëteiten van *Gladiolus* gebruikt.

De invloed van de gladiool op de sclerotiën in de grond werd nog op een andere wijze onderzocht. Daarbij werd uitgegaan van besmette grond, afkomstig van zieke percelen uit Zuid-Holland. Deze grond werd in drie porties verdeeld. Op het eerste gedeelte (de controle) werden uien gezaaid; gedurende een bepaalde tijd na opkomst werd het ziekteverloop nagegaan en het aantal zieke planten geteld. Het tweede gedeelte werd eerst met gladiolen beplant. Na vier maanden werden, na verwijdering van de gladiolknollen, uien gezaaid en het aantal zieke planten bepaald. Het derde gedeelte werd tweemaal gedurende vier maanden met gladiolen beteeld, vervolgens werden uien gezaaid en de zieke planten geteld.

Indien aangenomen wordt dat een reductie van het aantal sclerotiën in de grond een vermindering van het aantal aangetaste planten zal geven, dan zal het infectieniveau na elke volgende tussenteelt met gladiolen moeten dalen. In tabel 5 zijn de resultaten van deze proef vermeld.

TABEL 5. Witrotaantasting van uien na tussenteelt met *Gladiolus*.
White rot attack of onions after cultivation of Gladiolus.

Object	Aantal uieplanten <i>Number of onion plants</i>	Totaal aantal zieke uieplanten na .. weken <i>Total number of diseased onion plants after.. weeks</i>											Percentage zieke uieplanten <i>Percentage of diseased onion plants</i>
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Geen tussenteelt <i>No cultivation of Gladiolus</i>	117	0	0	0	0	6	22	41	41	41	41	41	35
1 × tussenteelt <i>1 × cultivation of Gladiolus</i>	126	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	18	14
2 × tussenteelt <i>2 × cultivation of Gladiolus</i>	115	0	0	0	0	0	0	1	1	4	7	10	9

Uit tabel 5 blijkt, dat het percentage zieke uieplanten na twee tussenteelten van gladiool werd gereduceerd van 35 % tot 9 %. Hoewel de waarnemingen van deze proef slechts over een korte periode liepen, geven deze cijfers voldoende aanwijzing dat gladiolen ook in natuurlijke, besmette grond de aantasting door witrot kunnen verminderen.

DISCUSSIE

Juist omdat *Sclerotium cepivorum* gespecialiseerd is op *Allium*-soorten, is een bestrijding door middel van vruchtwisseling aantrekkelijk. Indien bij de vruchtwisseling gewassen verbouwd worden die de sclerotiën als zodanig met rust laten, zal pas na vele jaren enig resultaat bereikt worden, gezien de grote persistentie van sclerotiën in de grond. Plant men echter een gewas als *Gladiolus*, dat de sclerotiën op de een of andere wijze beïnvloedt zonder zelf te worden aangetast, dan zal het infectieniveau van een besmette grond waarschijnlijk veel sneller worden verlaagd. Proeven op ruimere schaal in de praktijk zullen dit moeten uitwijzen.

SAMENVATTING

Door het feit dat witrot, *Sclerotium cepivorum* Berk., in de grond overblijft in de vorm van sclerotïën die zeer levenskrachtig zijn, is een economische bestrijding van deze ziekte met chemische middelen nog niet mogelijk. Onderzocht werd of een „natuurlijke” bestrijding met gebruikmaking van gladiolen als tussenteelt enig perspectief biedt.

Uit laboratoriumproeven met de knollen van *Gladiolus* bleek, dat één of meer onbekende stoffen via de wortels afgescheiden worden die, in zeer geringe concentraties, de kieming van sclerotïën van *S. cepivorum* stimuleerde. In hogere concentraties bleken deze remmend te werken op de groei van het mycelium. Ook sclerotïën in de grond werden door wortel-excreten van de gladiool op de een of andere wijze beïnvloed, waardoor het aantal sclerotïën sterk verminderde. In besmette grond, afkomstig van zieke percelen, werd de aantasting van uieplanten door witrot belangrijk verminderd na een voorvrucht met gladiolen.

Daar *Gladiolus* zelf niet als waardplant van *S. cepivorum* optreedt, zou bestrijding van witrot mogelijk kunnen zijn door *Gladiolus* als tussenteelt bij de verbouw van uien in te schakelen.

SUMMARY

Sclerotium cepivorum Berk., the cause of white rot in onions, survives in the soil in the form of sclerotia, which remain viable for many years and which are highly resistant against fungicides. Therefore economic control of the disease with chemical compounds is not yet possible.

In laboratory experiments root exudates of *Gladiolus* stimulated the germination of sclerotia. Higher concentrations of the active ingredient seemed toxic to the mycelium of *S. cepivorum* (tables 1, 2; figs. 2, 3, 4, 5).

The number of sclerotia in soil decreased more in the presence of *Gladiolus* than in controls without *Gladiolus* (tables 3, 4). In soil from infested onion aereas growing *Gladiolus* decreased the incidence of white rot in onions grown afterwards (table 5). It may therefore be possible to control white rot of onions by growing *Gladiolus* in infested fields.

LITERATUUR

- COTTON, A. D. & M. N. OWEN, - 1920. The white rot disease of onion bulbs. J. Min. Agric. 26: 1093-1099.
COLEY-SMITH, - 1958. The biology of the sclerotia of *S. cepivorum*. Thesis, University of Birmingham.
SEINHORST, J. W., - 1956. The quantitative extraction of nematodes from soil. Nematologica 1: 249-267.
TIMONIN, M. I., - 1941. The interaction of higher plants and soil micro-organisms. III. Effect of by-products of plant growth on activity of fungi and actinomycetes. Soil Sci. 52: 395-408.

